



TITLE:

消化器外科領域におけるアデノウ ウイルス感染症の研究：特に虫垂炎並 びに小児腸重積症の検討

AUTHOR(S):

正木, 直也

CITATION:

正木, 直也. 消化器外科領域におけるアデノウウイルス感染症の研究：特
に虫垂炎並びに小児腸重積症の検討. 日本外科宝函 1975, 44(6): 474-494

ISSUE DATE:

1975-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208093>

RIGHT:

消化器外科領域におけるアデノウイルス感染症の研究

——特に虫垂炎並びに小児腸重積症の検討——

京都大学外科学教室第2講座（指導：日笠頼則 教授）

正 木 直 也

〔原稿受付：昭和50年9月10日〕

A Study on Adenovirus Infection in Intestine

—Clinical and Experimental Investigation—

NAOYA MASAKI

The 2nd Surgical Department, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

An etiology of appendicitis and infantile intussusception has remained obscure, although the association of adenovirus infection in these diseases was reported.

In order to elucidate the pathological aspects of infection with adenovirus in appendicitis and infantile intussusception, mice were inoculated orally through a polyethylene stomach tube with murine adenovirus and then sacrificed at regular intervals.

Virological, histochemical and immunohistochemical studies showed that adenovirus could always be isolated from the ileum for 2 weeks after inoculation, but after that no virus was found in any tissues.

The antibody titer in the serum against murine adenovirus rose 3 weeks after inoculation and numerous mesenteric lymph nodes showed remarkable swelling at the same time. It resembled non-specific mesenteric lymphadenitis in clinical case.

Appendices from patients as well as mice tissue were examined by the immunofluorescent antigen technique using FITC—labeled soluble A antigen of adenovirus type 12.

Specific adenovirus antibody was demonstrated clearly in the plasma cells of appendix as well as adenovirus infected mouse intestine and mesenteric lymphnodes.

In 48 of 100 cases specific adenovirus antibody producing cells can be detected in the lamina propria of the mucosa in this study.

In the thymus adenovirus antibody containing cells were detected in the early stage after inoculation—this findings is interesting and will be investigated further.

Key words: Appendicitis and infantile intussusception, Adenovirus, Fluorescent antibody and antigen technique

Present address: The 2nd Surgical Department, Kyoto University Medical School, Sakyo-ku, Kyoto, Japan.

第1章 緒 言

外科学、特に消化器外科領域において、現在まで、原因が不明とされて来た疾患や、極くありふれた疾患のうちにも、ウイルス学的に検索あるいは再検討してみると、ウイルスがその発症に深い関係があると思われる一連の疾患群がある。

1955年、Kjellén¹⁾は、非特異的腸間膜リンパ節炎の腸間膜リンパ節から、アデノウイルスを分離することに成功し、その後、Ross²⁾³⁾ (1962)は、小児腸重積症の成因としてアデノウイルス感染を重視し、Gardner⁴⁾⁵⁾ (1962)、Bell⁶⁾ (1962)も同様の成績を報告している。

また、虫垂炎についても、戸部⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾ (1965)は、コクサッキーB型ウイルス¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾あるいはアデノウイルス感染¹⁵⁾が本疾患のTriggerとして無視できないことを報告し、次いでBonard, Paccaud⁴⁷⁾ (1966)は虫垂からアデノウイルスを分離し、戸部の意見を肯定した。

このように、リンパ組織を侵害する疾患群の病因として、いくつかのウイルス感染の関与が考えられるが、特にアデノウイルスの感染は、本ウイルスがリンパ組織から分離され、その命名の起源となったように、特にリンパ組織に強い親和性を示すこともあって、殊に注目される。

ところが、諸家のこれらの報告は、血清抗体価の推移、あるいは糞便等からのウイルス分離によったもので、必ずしも、陽性率は高くない。更にこれらの疾患の切除標本で最も注目される所見は、腸管壁リンパ組織、腸間膜リンパ節の増殖であるが、これらの組織にウイルス抗原を証明し得るものは少ないのである。

児玉¹⁶⁾ (1972)は、組織切片上の特異抗体の局在を観察する目的で、アデノウイルスの可溶性群共通抗原であるA抗原を精製し、これに螢光色素を標識した螢光抗原法を考案し、抗アデノウイルス抗体の局在を明らかにすることを可能ならしめている点に鑑み、著者は系統的に計画された感染モデルや数多くの臨床例について、従来のウイルス学および免疫組織学的検索と共に、螢光抗原法をも併せ行ない、これら腹部疾患の多くが果してアデノウイルス感染によるものと考えてよいかどうかを実験に匡してみた。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 検 索 方 法

I. 螢光抗原法

A 螢光抗原液の作製

(1)ウイルスの増殖：アデノウイルスとしては京都大学ウイルス研究所で継代培養されている12型 (Huie株)を用いた。螢光標識抗原としては群共通性を有するA抗原を用いることもあって如何なる型のものを用いてもよいわけであるが、特に12型を選んだのは、ウイルス増殖が比較的容易であり、またA抗原を精製する際のDEAEセルローズカラムクロマトグラフィーの施行に当りこの型のものを用いた際には、まずA抗原が最初に溶出して来るところから、いわゆる tailing effect による他抗原混入の怖れが比較的避けられ得るものと考えたからである。

ウイルス増殖には、単層培養したKB細胞²¹⁾を用い、培養液としては増殖用に10% calf serum 加 MEM (Minimum Essential Medium of Eagle²²⁾)を、また維持用に1% calf serum 加 MEM を夫々用いた。

ウイルスの100 TCID₅₀量を、予めRouxビンに単層培養しておいたKB細胞に接種し、1時間吸着せしめた後更に1% calf serum 加 MEM 30 mlを加え37°Cで培養した。3～4日後、アデノウイルス特有の細胞変性効果 (CPE) が全細胞にみられるようになったところで回収し、2,000 rpm 10分間遠沈し細胞沈渣のみを約2.5 mlのEarle液に再浮遊せしめた。次いで、これをドライアイス加アセトン液により5回に亘りくり返して凍結融解し培養細胞を崩壊せしめた上2,000 rpm 10分間遠沈し、その上清を粗ウイルス液とした。

(2)ウイルス可溶性抗原の精製：上記の方法により得られた粗ウイルス液にフロロカーボン²³⁾を等容混和し、1分間攪拌後、2,000 rpm 3分間遠沈、上清液を採取、同様の操作を3回くり返して粗ウイルス液のリボ蛋白を除去した。

更に、これをカーボワックスにより濃縮²⁴⁾し、蛋白濃度がほぼ1.0 mg/dlとなるように調整した。なお、蛋白濃度の測定にはFolin-Phenol法²⁵⁾を用いた。

次いで、DEAEセルローズクロマトグラフィー²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾を行なうわけであるが、その際まずIN-NaOH溶液、次いでIN-HCl溶液、IN-NaOH溶液といった具合に順次DEAEセルローズ (0.80 mEq/gr)を洗滌し、それを活性化せしめた後、更にその洗滌液がほぼ中性になるまで十分に蒸留水で洗い、然る後直径1 cmのカラムに約10 cmの高さまでそれを充填した。斯くして後、pH 7.0, 0.01Mリン酸緩衝液で2日間洗滌をつづけ十分にそれを飽和せしめた。

一方、濃縮粗ウイルス液も、pH 7.0, 0.01M リン酸緩衝液で24時間透析し、全量を4~5 ml とした。カラム内緩衝液をセルローズ面ぎりぎりになるまで滴下させ、その上に上記ウイルス液を静かに加え、1分間に約0.5 ml の速さで滴下するようにならしめた。ウイルス液の上面がセルローズ面に達した後は、0.01M-NaCl 加リン酸緩衝液から順次 0.025M, 0.05M, 0.075M, 0.1M, 0.125M, 0.15M, 0.2M-NaCl を含む0.01M リン酸緩衝液10 ml を夫々用いて段階的に溶出せしめ、分画1~8各10 ml を得た。

こうして得られた各分画液について、夫々抗アデノウイルス12型ウサギ免疫血清との間に補体結合反応を行ない、更に Gel 内沈降反応 (Ouchterlony 法²⁹⁾) をも行なって、群共通抗原 (A 抗原) 含有分画を決定した。図1に示すように A 抗原の大部分は、0.01~0.025 M-NaCl 分画中に含まれている。

(3) 抗原の標識: A 抗原液は、蛋白量が1.5 mg/dl になるように、カーボワックスにより濃縮し、veronal buffer^{註(1)} 透析により pH 8.7 とした。次いで、この抗原液を小ビーカーに移し、マグネチックスターラーで泡立ちのないように攪拌しながら、その上に予め少量の veronal buffer に溶解しておいた FITC (Fluorescein Isocyanate, BBL 製) 5 mg を静かにのせる³⁰⁾⁽³¹⁾。マグネチックスターラーによる攪拌を12時間続けた後、更に staining buffer^{註(2)} により2日間透析し、遊離の FITC を除去した。

以上の透析、標識などの操作はすべて4°Cの暗室下で行なった。出来上った標識液は、2,000 rpm 30 分間遠沈した後、褐色アンブルに分注し、-20°Cに保存した。

B. 染色法

各種検索標本は、小薄片となし、4°C 95%エタノールで、1~2時間固定し、更に固定を充分ならしめるために、厚さ3~4 mm の小薄片とした上、再度4°C 95%エタノール中に入れ、一夜冷蔵庫内に保管した。その後、冷無水エタノールで3日間脱水、冷キシロール透過後60°Cパラフィンで包埋、型の如く切片を作成した。

染色は切片を無蛍光スライドガラスにのせ、キシロールによる脱パラフィン、エタノールによる固定を行

なった後、上記の蛍光抗原液1滴をのせて室温下に、Moist Chamber 内で2~6時間反応させ、次いで、staining buffer で十分に洗滌した後、更に glycerin buffer^{註(3)} を1滴のせ、次いでカバーガラスをのせて蛍光顕微鏡下に観察した。なお、これらの操作中、常に組織切片が乾燥しないように留意した。蛍光顕微鏡としては、超高圧水銀ランプによる励起光発生装置を装備した Carl Zeiss 社製のものをを用いた。また必要に応じて蛍光顕微鏡下に観察した後、再びカバーガラスを注意深く除き、ヘマトキシリン・エオジン染色を行ない、細胞の同定を施行した。

写真撮影は主としてスライド用カラーフィルム (ASA 100) をを用いたが、Trix (ASA 400) なる白黒フィルムをも必要に応じて併用した。

C. 蛍光抗原法の特異性の証明

(1) Blocking Test³¹⁾: 蛍光抗原法で明らかに蛍光を認め得た標本から、もう1枚同じ切片を作成し、このたびは蛍光標識してない抗原液により、Blocking Test を行ない、蛍光染色が特異的であることを確認した。

(2) Sandwich 法による証明³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾: マウス胎児細胞の単層培養をカバースリップ上で行ない、これにマウスアデノウイルス (Hartley 株) を接種し、細胞変性効果が認められた後、70%冷エタノールでそれを固定、予じめ作成しておいた抗マウスアデノウイルス家兎免疫血清で、室温下に30分反応させ、次いで血清を十分に洗滌した後、蛍光抗原液をそれに反応せしめるといういわゆる“サンドウィッチ法”を行ない、図2に示すように、核内ウイルス抗原が特異的に染色されることを確認した。

(3) Autofluorescence: 染色前の標本を蛍光顕微鏡下で観察し、autofluorescence を除外した。

II. 蛍光抗体法

蛍光抗体法は、浜島の変法²⁸⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾による直接法によった。

A. 蛍光抗原液の作製

Hartley により分離され、京都大学ウイルス研究所保存のマウスアデノウイルス (FL 株) 10^6 TCD₅₀/ml を調製し (増殖、感染価測定法は後記)、その5 ml をモルモットの腹腔内に接種し、15日後に再びその1 ml

註(1): 原液 A: 0.015M バルビタール (ジエチルバルビツール酸 2.76gr を蒸溜水 1ℓ に溶解)

原液 B: 0.5M バルビタールソーダ (バルビタールソーダ 10.3gr を蒸溜水 100ml に溶解)

原液 A 450ml, 原液 B 50ml に蒸溜水 500ml を加えて pH 8.7 とす。

註(2): pH 7.2, 0.15M リン酸緩衝液のことで、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を 0.45gr, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ を 3.23gr, NaCl を 8.0gr を 1ℓ の蒸溜水に溶解したもの。

註(3): Staining buffer 1 容と無蛍光 Glycerin 9 容とを混和したもの。

を booster として静注し、1 週間後に全採血、血清分離を行なった。

この抗血清 16ml を採りそれに飽和硫酸アンモニウム液 8ml を静かに攪拌しながら加えて、34% 飽和硫酸アンモニウム液とし、4°C 下に一夜放置し、翌日これを 1800 rpm 15 分間遠沈し、得られた沈渣を 4°C の蒸流水に静かに溶かし、16ml とし、再び半量の飽和硫酸液を加え、2 時間低温に放置、然る後遠沈するといった操作をくり返した。こうして得られた最終沈渣を、4°C の生理的食塩水に溶解し、直ちに冷 staining buffer で透析を始め、時折 buffer を交換して、膜外の透析液中に窒素化合物の存在しないことを飽和塩化バリウム液で確認できるようになるまで透析をつづけた。なお、蛋白定量は Folin-Phenol 法²⁵⁾ によった。

蛋白濃度がほぼ 10 mg/ml となるように冷生理的食塩水で調製し、その全量の 1/10 容に相当する冷 0.5M 炭酸一重炭酸緩衝液を静かに加え、pH を 9.1 とした。次いで、螢光抗原法と同じ要領で、螢光色素 FITC を色素：蛋白 = 1 : 100 の割合となるように加え、6 時間 4°C 下に暗室内で持続攪拌した上、Sephadex により遊離色素の除去を行なった。即ち、Sephadex 50. 7g を 0.01M リン酸緩衝液に溶かし、よく攪拌すると、Sephadex は次第にゲル状となり、次いで攪拌を中止すると、ゲルは下方に沈むので、上清を捨てゲル化した Sephadex のみを直径 2cm、高さ約 20cm のカラムに充填、次いで Conjugate を静かに上から注ぎ、Conjugate がゲル層内に充分しみ込んだ頃合を見計って、0.01M リン酸緩衝液を更に注ぎ、滴下が進みそこに二層の黄色バンドを生ずようになるのを待って下層のバンドのみを試験管に集め、これを DEAE セルローズカラムクロマトグラフィー²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾の施行に供した。

IN-NaOH 溶液、次いで IN-HCl 溶液、IN-NaOH 溶液といった順番に洗滌、活性化せしめた DEAE セルローズ (0.80 mEq/gr) を更にその洗滌液がほぼ中性になるまで充分に蒸留水で洗い、然る後直径 1 cm のカラムにそれを約 10cm の高さになるまで充填し、更に 0.05M pH 8.4 のリン酸緩衝液 (starting buffer) で洗い、pH を正確に 8.4 とした。

一方、Conjugate をセルローズの pH と同じ条件にするため、starting buffer (pH 8.4) で透析した後、Conjugate をカラムに静かに注入する。更に、start-

ing buffer を少量ずつ滴下して Conjugate を洗滌、pH 8.4 の条件下に色素と結合していない遊離の蛋白と、蛋白と結合していない遊離の色素を共に洗い落とし、滴下溶液の緑黄色の色調が全く消失したところで starting buffer の滴下を中止、0.05M pH 6.4 のリン酸緩衝液を滴下する。滴下液は 10 ml 毎にフラクションコレクターで試験管内に順次集め、第 2 試験管より第 6 試験管までの計 50 ml を分画 1 液とする。こうして第 6 試験管への滴下が、セルローズの上界面すれすれまで減じた時、リン酸緩衝液の濃度を 0.05M から 0.1 M に上げ、同じ pH の条件下に滴下を開始すると、蛋白は通常 2 本目位から落下するので、第 2 ~ 6 本目までの試験管の液を第 II 分画液として回収すればよい。

分画 I および II 液計 100ml を staining buffer により 12 時間透析し pH 7.2 とし、カーボワックスにより濃縮、蛋白濃度を 5mg/dl とする。濃縮終了後、pH 7.2 の staining buffer で再び 12 時間透析をくり返す。

濃縮、透析が終わった螢光抗体液は、12,000 rpm 30 分間に遠沈した後、褐色アンプルに分注し、染色に供するまで -20°C に保存する。

螢光抗体法の染色法、観察法は、全く螢光抗原法の場合と同様である。

Ⅲ ウイルスの分離³³⁾

各マウスから末梢血および胸腺、肺、肝、胃、小腸、大腸、脾、腸間膜リンパ節等の組織を採取し、各組織は眼科用ハサミで細切したのち、約 10 倍量の Hanks 液^{註(4)}中に浮遊させ pipetting を 30 回以上くり返した後、ドライアイス加アセトンにより凍結融解を 5 回以上行なってその遠沈上清を得る。これをマウス胎児細胞培養管 (2 代目) に接種培養し、その細胞変性効果の出現を確認する。

Ⅳ 血清中和抗体価の測定³³⁾

使用ウイルス液としては接種用マウスアデノウイルスを予め Hanks 液で 2×10^2 TCD₅₀/ml に調整したものを用いた。採取血清を 56°C 30 分間加熱、非働化し、Hanks 液により倍数希釈法により 1 : 4 ~ 1 : 128 までの希釈列となし、この各希釈血清 0.5ml にウイルス液 0.5ml (10^2 TCD₅₀) を混和し、37°C 下に 1 時間作用させた。この血清ウイルス混合液 0.1ml をマウス胎児細胞 2 代目培養管に夫々 4 本ずつ接種せしめ、血清対照管、ウイルス対照管と共に 37°C 下に 1 週間培養

註(4)：蒸留水 1ℓ 中に次のような塩類を含む

NaCl 8.0gr, KCl 0.4gr, CaCl₂ 0.14gr, MgSO₄·7H₂O 0.2gr, MgCl₂·6H₂O 0.1gr, Na₂HPO₄·2H₂O 0.06gr, KH₂PO₄ 0.06gr, NaHCO₃ 0.35gr, Phenol Red 0.02gr, Glucose 1.0gr.

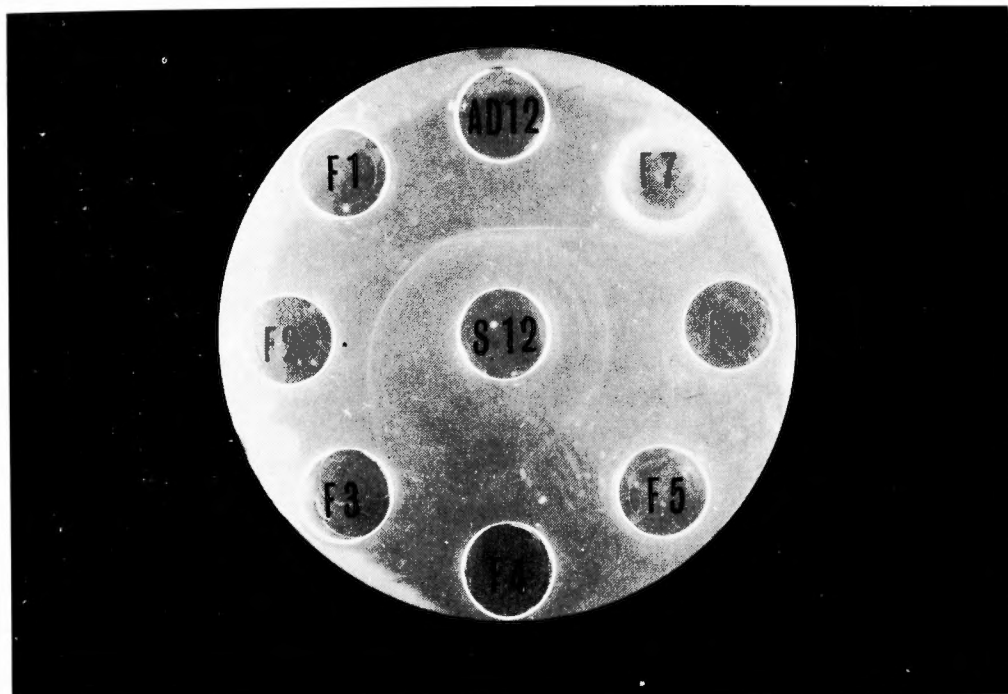


図 1 アデノウィルス12型抗原の DEAE セルロースカラム・クロマトグラフィーによる分画。
S12: 抗アデノウィルス12型家兔免疫血清。 AD12: アデノウィルス12型粗抗原。
F1~F7: 0.01M~0.2M NaCl 加リン酸緩衝液による各分画。
F1~2 と F5~7 にそれぞれ別の抗原が含まれていることを示す。



図 2 蛍光抗原法の特異性の証明。 Sandwich 法
マウスアデノウィルスに感染させたマウス胎児細胞に、まず抗マウスアデノウィルス家兔免疫血清を反応させ、ついで FITC 標識アデノウィルス抗原を反応させると、感染細胞核内の封入体に蛍光が認められる ($\times 1000$)。

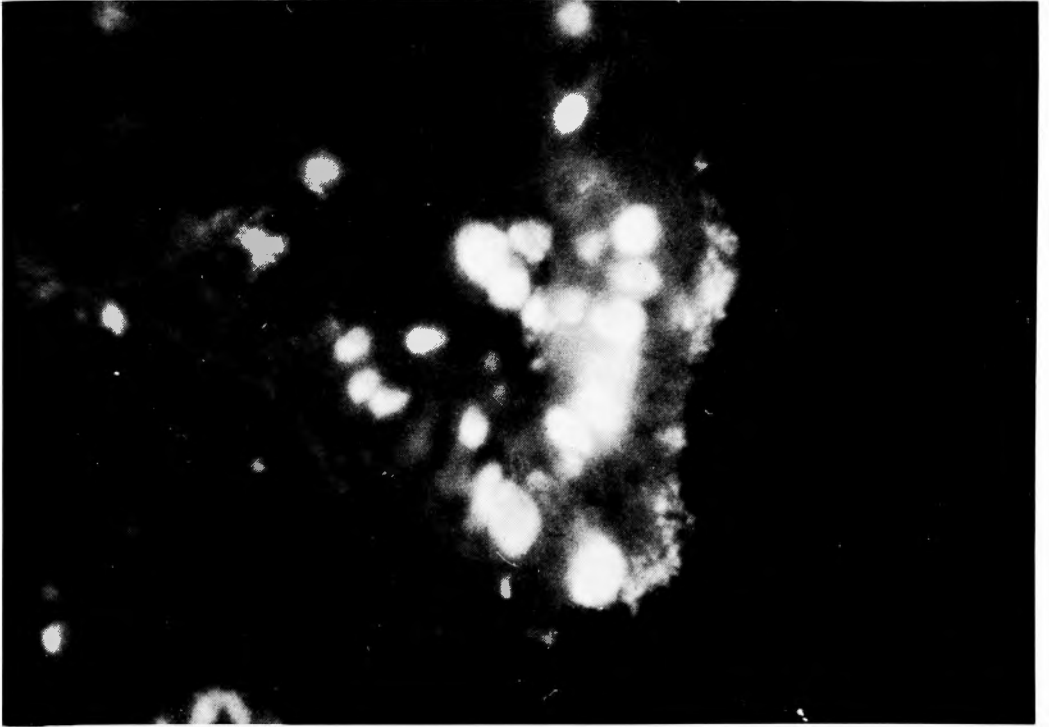


図 3 マウスアデノウイルス経口感染 2 日後のマウス小腸にみられるウイルス抗原。
蛍光抗体法 $\times 400$.

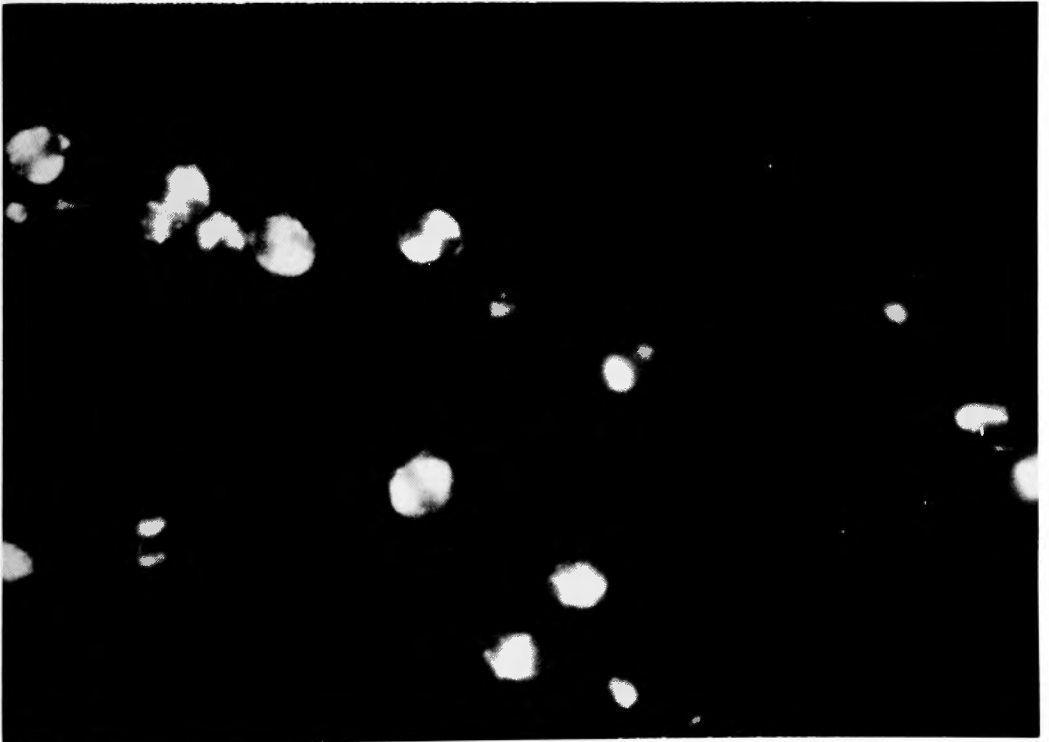


図 4 マウスアデノウイルス経口感染 4 日目のマウス胸腺、胸腺髄質に抗アデノウイルス抗体保有細胞を認める。(蛍光抗原法, $\times 400$)

し、連日観察をくり返し、細胞変性効果を阻止する血清の最高稀釈倍数値を読みとった。

第2節 検 索 対 象

I 感染実験

(1) 感染ウイルスの調整: dd 株均一系の妊娠マウスを脱血、屠殺し、無菌的に胎児を摘出し、頭部と尾を除いた8~10尾分を少量の Hanks 液の入ったシャーレ内でハサミにより細切したのち、digestion flask 中に入れ、0.1% トリプシン加 PBS 液^{註(5)}に再浮遊させ、室温下に30分間マグネチックスターラーを使用して攪拌、次いで滅菌ガーゼによりこれを濾過し、大きな組織塊を除去した後、これに同量の10% 仔ウシ血清加 Eagle 培養液を加えてトリプシンの不活性化を行ない、2,000 rpm 5分間遠沈し、その沈渣を3%仔ウシ血清加 Eagle 液中に再浮遊させた。浮遊液0.5ml を採り、0.5% トリパンブルー水溶液を当量加え、直ちに赤血球用計算板により、トリパンブルーに染まらない細胞(生細胞)の数を計算し、細胞数が 3×10^5 /ml となるように上記の浮遊液を加減した。平角型培養瓶に、このマウス胎児細胞浮遊液 50ml を注入し、37°C 下に静置、培養、必要に応じて培養液の交換を行ないながら6~7日間培養、細胞がガラス壁に付着して単層に増殖して来たことを顕微鏡により確認し得たならば、培養液を捨て、EDTA と少量の1% トリプシン液により細胞を回収し、更に5%仔ウシ血清加 Eagle 液にて初代培養の際と同様の条件下に再び培養した。

(2) 感染ウイルスの増殖: こうして得られたマウス胎児2代目培養細胞に、マウスアデノウイルスFL株(以後 M-Ad と略す)を接種した。接種方法は、前述のアデノウイルス12型の場合と同様である。37°C 下に4日間培養をつづけ、顕微鏡下に細胞変性効果が十分に生じていることを確認した後、これを回収し凍結融解を5回くり返し、感染用 M-Ad ストックとした。なおこのウイルス液の感染価は、上記の2代目マウス胎児細胞の培養管5本づつに0.5 log 10とびの稀釈で接種し、回転合法にて2週間観察し、Reed-Muench 法で計算したところ約 5×10^6 TCD₅₀/ml であった。

(3) 感染方法: 日令40~50日の dd 株均一系マウスの胃内へ、経口的に細いポリエチレンチューブを挿入し、上記の M-Ad 液 0.3ml を注入した。M-Ad を経口的に接種されたマウスは、3~10日後に至るとその約30%が回腸粘膜上皮の強い出血性壊死をみ、斃死

する。このような斃死例を除き、その他の M-Ad 接種前、および接種後3, 7, 10, 14, 21, 28日目のマウスを夫々3尾づつ脱血、屠殺した上、各マウスの末梢血、糞便および胸腺、脾、胃、小腸、大腸、腸間膜リンパ節等の各臓器につき、前記の如くウイルス分離、蛍光抗体法、蛍光抗原法による検索、更には血清中和抗体価の測定等を行なった。

II 臨床例

昭和46年度のほぼ1年間に虫垂炎患者から集めた100例の虫垂と、昭和44年より約2年間に亘り集めた小児腸重積症の10例の虫垂、腸間膜リンパ節を検索の対象とした。

虫垂炎患者より得られた虫垂のうち、特に Appendicitis phlegmonosa といった程度よりも病変の著しいものは全てこれを除き組織学的破壊の比較的軽いもののみを検索の対象とした。その分類は本本等のそれに従った。

その年令分布は、表1に示すように0~10才13例、11~20才19例、21~30才48例、31~40才8例、41~50才4例、51~60才5例、61~70才3例であった。

小児腸重積症の年令分布は、0~1才5例、1~2才3例、4才1例、5才1例である。

第3章 実 験 成 績

第1節 感 染 実 験

I. 感染マウスの肉眼的所見

Murine adenovirus を経口的に接種されたマウスの約30%は接種後3~10日の間に斃死する。この時期をのり超えたものは通常生存しつづける。斃死マウスにみられる最も著しい所見は回腸粘膜上皮の強い出血性壊死である。この時期に斃死せず、生存しつづけたマウスでは接種14日目頃より腸間膜リンパ節および回腸末端部の孤立リンパ小節(パイエル板)が肥大するようになる。しかし、それ以外の臓器にはこれといった著変は認められない。

II. ウイルス分離成績

M-Ad 接種後のマウス各臓器からのウイルス分離の状況は、表2に示すように主として回腸、大腸、腸間膜リンパ節等消化管下部およびその附属リンパ組織から分離され得る。しかし時によっては、心臓および腎臓からも分離し得る。ウイルス分離の可能ないわゆる腸性期間は接種後2週目までで、それ以後は陰性で

註(5): PBS (Phosphate Buffer Saline) は蒸留水1ℓ中に次の塩類を含む。

NaCl 8.0gr, KCl 0.2gr, Na₂HPO₄ 1.15gr, KH₂PO₄ 0.2gr.

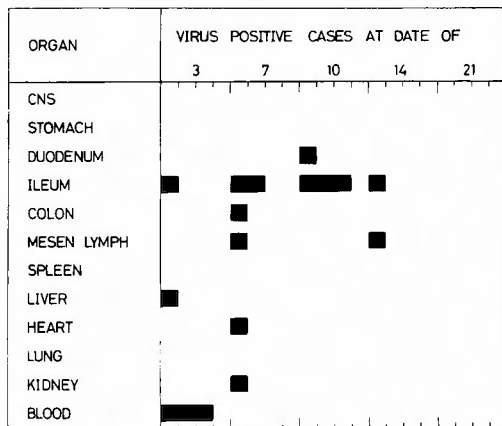
表 1

No	Case	Age	Sex	Disease	Ag. Technique
1	S. T	28	M	Appe. Chronica	+
2	M. M	40	M	Appe. purulenta	+
3	A. Y	32	F	Appe. catarrhalis	+
4	M. M	14	F	"	-
5	K. H	25	M	"	-
6	K. O	27	M	"	+
7	O. H	54	M	"	-
8	T. O	46	M	"	-
9	K. M	21	M	"	-
10	S. M	11	M	"	+
11	T. M	25	M	"	+
12	T. U	27	M	"	+
13	A. K	23	F	"	+
14	T. S	43	F	Appe. purulenta	+
15	T. Y	23	F	Appe. catarrhalis	-
16	H. Y	16	F	"	+
17	T. T	39	M	Appe. purulenta	-
18	Y. T	23	M	Appe. catarrhalis	+
19	Y. Y	24	M	"	+
20	Y. U	51	M	"	-
21	S. Y	31	F	Peritonitis tuberculosa	-
22	S. H	26	F	Appe. catarrhalis	+
23	S. M	59	F	"	-
24	I. Y	27	M	"	-
25	Y. H	21	F	"	+
26	H. S	25	F	"	-
27	Y. T	18	F	"	+
28	T. A	23	F	"	+
29	M. F	24	M	"	+
30	M. K	23	F	"	+
31	T. Y	38	F	"	+
32	T. N	18	F	"	+
33	K. T	28	M	"	+
34	Y. S	29	M	"	+
35	Y. Y	26	F	"	+
36	K. I	15	F	Appe. purulenta	+
37	M. K	23	F	Appe. catarrhalis	-
38	R. S	22	F	"	-
39	H. H	16	F	Appe. catarrhalis	-
40	F. T	25	M	"	-
41	T. I	29	F	"	+
42	K. T	22	M	Appe. purulenta	-

No	case	Age	Sex	Disease	Ag Technique
43	M. K	18	M	Appe. catarrhalis	—
44	T. T	43	M	Appe. phlegmonosa	—
45	K. Y	16	F	Appe. catarrhalis	—
46	Y. M	11	M	"	—
47	Y. T	19	F	"	++
48	M. N	25	M	"	+
49	A. S	37	M	"	+
50	T. M	60	F	Appe. phlegmonosa	—
51	N. N	24	F	Appe. catarrhalis	—
52	T. S	62	F	"	—
53	S. M	25	M	"	+
54	R. T	24	M	"	—
55	T. O	27	M	"	+
56	I. Y	23	M	"	—
57	T. K	22	M	"	+
58	H. N	26	F	"	—
59	J. T	21	F	"	+
60	K. T	70	F	Appe. purulenta	—
61	K. S	40	F	Appe. perforativa	—
62	K. Y	18	F	Appe. catarrhalis	+
63	S. S	35	M	Appe. purulenta	—
64	R. K	61	F	"	—
65	T. Y	29	M	Appe. catarrhalis	+
66	N. T	19	F	"	—
67	N. S	25	M	"	—
68	M. N	49	M	"	+
69	K. K	22	M	"	—
70	T. Y	24	F	"	—
71	M. B	11	F	"	++
72	T. O	25	F	Appe. purulenta	—
73	M. I	15	F	Appe. catarrhalis	++
74	M. O	21	M	"	++
75	H. Y	25	F	"	++
76	Y. N	21	F	"	++
77	S. H	25	M	"	+
78	K. O	40	F	Appe. purulenta	—
79	Y. I	1	M	Appe. catarrhalis	—
80	T. M	3	F	Appe. purulenta	—
81	Y. M	4	M	"	—
82	S. F	6M	M	Appe. catarrhalis	—
83	N. Y	6	M	"	++
84	N. M	4	F	"	—
85	M. F	3	F	"	—
86	K. I	2	M	"	—

No	case	Age	Sex	Disease	Ag Technique
87	M. T	24	F	Appe. catarrhalis	+
88	E. H	3	M	"	—
89	K. F	4	F	"	—
90	Y. N	27	M	"	+
91	Y. Y	24	M	"	++
92	T. H	23	M	"	++
93	E. M	23	M	"	+
94	Y. N	3	F	"	—
95	S. N	4	F	"	—
96	A. U	3	F	"	—
97	D. M	11	M	"	+
98	N. H	14	F	"	—
99	H. K	13	F	"	—
100	Y. M	51	F	Appe. purulenta	+

表 2



ある。また、その頃から血中抗体価の上昇が認められるようになる。

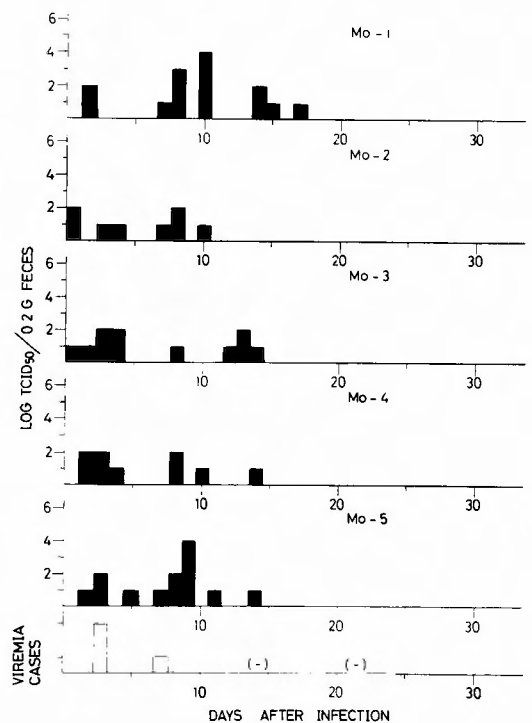
末梢血よりのウイルス分離は接種後4日目まで可能であるが、それ以後は不可能である。

感染マウスの糞便中へのウイルスの排泄状況は、表3に示すように接種後1日目から長いものでも17日目までで、そのピークは接種後5日目から10日目の間にある。これは蛍光抗体染色で特異蛍光が回腸に最も強く而も広範囲にみられる時期に一致する。

Ⅲ. 蛍光抗体法成績

蛍光抗体法によりウイルスの強い増殖を示唆する特異蛍光の認められる部位は回腸で、特異蛍光は図3に示すようにウイルス接種後2～3日もすると回腸のLiberkühn 氏腺細胞核内にみられるようになり、5～

表 3



17日目に至り腺窩を囲む全細胞にまで拡がる。しかし、それ以後は蛍光陽性細胞の数は減少し、2週間目以降は喰食細胞と思われる細胞の細胞質内のみ限極してみられるようになる。このような状態は少なくとも感染後1ヶ月目頃まで持続する。その他、感染10日目

以降から40日目頃まで脾臓および腸間膜リンパ節に特異蛍光陽性細胞が散在してみられるようになるが、その殆んどは喰食細胞と思われる細胞の細胞質内に限極してみられ、積極的にウイルスの増殖を思わせるような像は全く認められなかった。

IV. 血清抗体価の推移

表4に示すように、血清の M-Ad 中和活性は接種後2週間後2週間目頃から認められるようになり、接種後1ヶ月目頃まで上昇しつづけ、以後緩徐に下降する。

V. 蛍光抗原法成績

感染マウスの各臓器を蛍光抗原法で検索すると、表5に示すように、各臓器にアデノウイルスの特異抗体の存在を認め得た。即ち、

〔胸腺〕：接種後2日目より8日目までの間、図4に示すように、胸腺髄質および皮質髄質移行部にかけ、特異蛍光を発する単核の円形細胞が認められた。この細胞は数個~10数個づつ グループをなして存在する。10日目以降は最早蛍光を認め難い。

〔脾臓〕：接種後2日目より、12日目までの間、特異蛍光を発する単核の円形細胞の存在を認め得る。

〔胃・十二指腸〕：全期間を通じ全く特異蛍光は認められなかった。

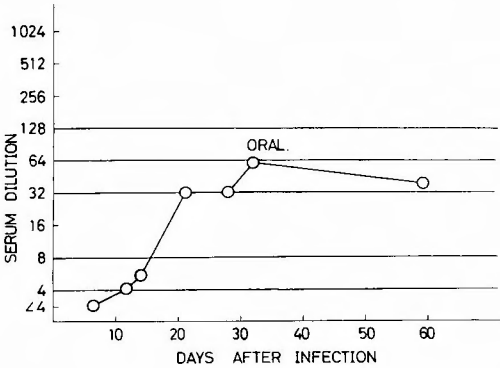
〔腸間膜リンパ節〕：接種後6日目より12日目までの間、腸間膜リンパ節の皮質の部に相当して特異蛍光を発する単核の円形細胞の存在を認め得た。この細胞は10ヶ~数10ヶづつグループをなして存在する。

〔回腸〕：接種後8日目より12日目までの間、回腸粘膜固有層に散在性に細胞質が著明な蛍光を発する円形細胞の存在をみた。(図5)

〔結腸〕：接種直後の初期には蛍光を全く認め得な

表 4

NEUTRALIZING ANTIBODY RESPONSE IN MICE INFECTED WITH M-AD VIRUS



いが、接種後12日目頃になると結腸粘膜固有層に散在性に、細胞質が特異蛍光を発する円形細胞の存在を認めるようになるが、その数は少ない。

第2節 臨 床 例

1 虫垂の成績

100例の虫垂炎患者より得た虫垂を蛍光抗原法により検索したところ、その48例においてアデノウイルスの特異抗体保有細胞の存在を確認し得た。即ち、図6に示すように、虫垂の粘膜固有層に細胞質が典型的な蛍光を発する単核の円形細胞の存在を認め得たのである。そのような円形細胞は全視野を通じて3~4ヶ所に10数個づつ集落的に存在している。しかし、リンパ小節内に認められなかった。カバーガラスを注意深く除き、更にその同一切片をヘマトキシリン・エオジンにより染色してみると、図7に示すように、蛍光の認められた細胞は何れも円形細胞であり、蛍光部分は顆

表 5

Results of examinations of various organs of mice infected with M-Ad virus by F-Ag technique.

Organ	2	4	6	8	10	12
Thymus	++	++	++	++	—	—
Spleen	++	++	++	++	++	+
Mesen. Lymph.	—	—	++	—	++	++
Stomach	—	—	—	—	—	—
Duodenum	—	—	—	—	—	—
Ileum	—	—	—	++	++	+
Colon	—	—	—	—	—	+

(Per oral infection.)

表 6

Case	Sex	Age	Summary of Cases of Intussusception						
			Duration of Symptoms	Respiratory Infection	Increase in CF Antibody Titre (adenovirus)	Virus Isolation Faeces	Treatment	Immunofluorescence Appendix	Mesent. node
1.	F	19m	1 day	—	+ × 4, × 4	—	operative	+	+
2.	F	5m	1	—	— × 4	—	operative	+	+
3.	F	14m	2	—	× 4, adeno + × 4, Echo × 4 × 8 Cox.	—	operative	—	—
4.	M	6m	2	+	— × 4	—	operative	—	—
5.	M	6y	1	+	+++ × 32, × 128,	—	operative	+	+
6.	F	3m	1	+	+ × 4, × 8,	—	operative	+	+
7.	M	16m	3	+	+++ × 4, × 32,	+adenol,2	Ba. enema		
8.	M	4y	1	—	+++ × 32,	—	Ba. enema		
9.	M	2m	2	+	+++ × 4, × 32	—	Ba. enema		
10.	M	9m	1	+	— × 4	—	Ba. enema		

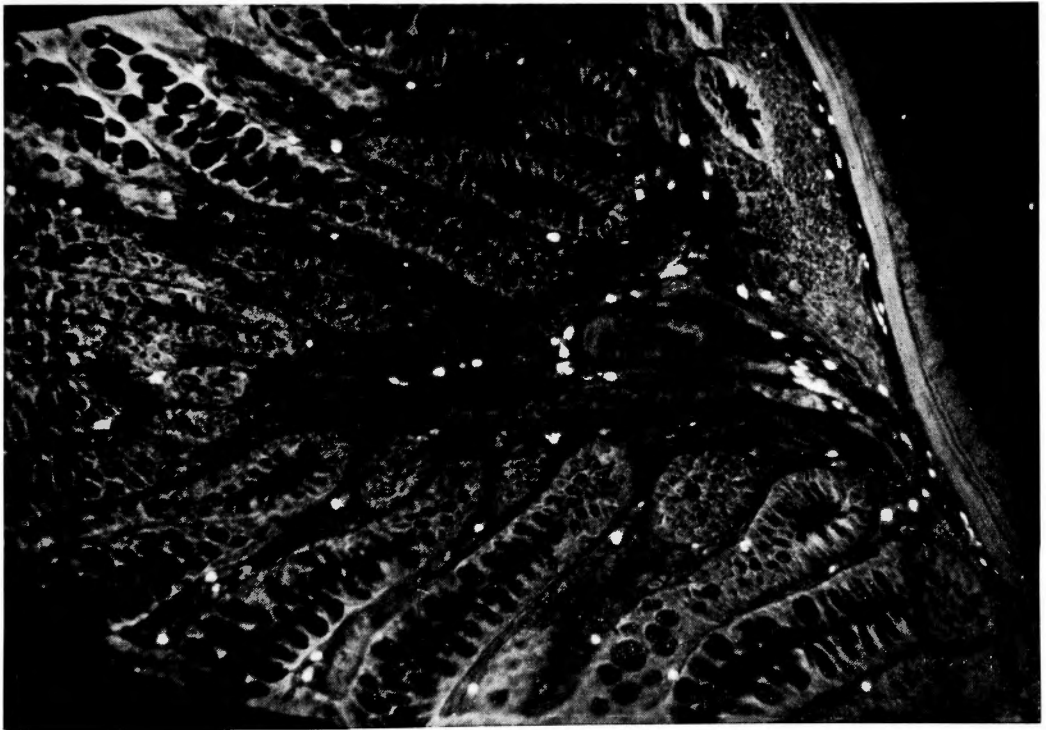


図 5 マウスアデノウイルス経口感染 8 日目のマウス回腸。回腸粘膜固有層に抗アデノウイルス抗体保有細胞を認める。(蛍光抗原法, ×160)

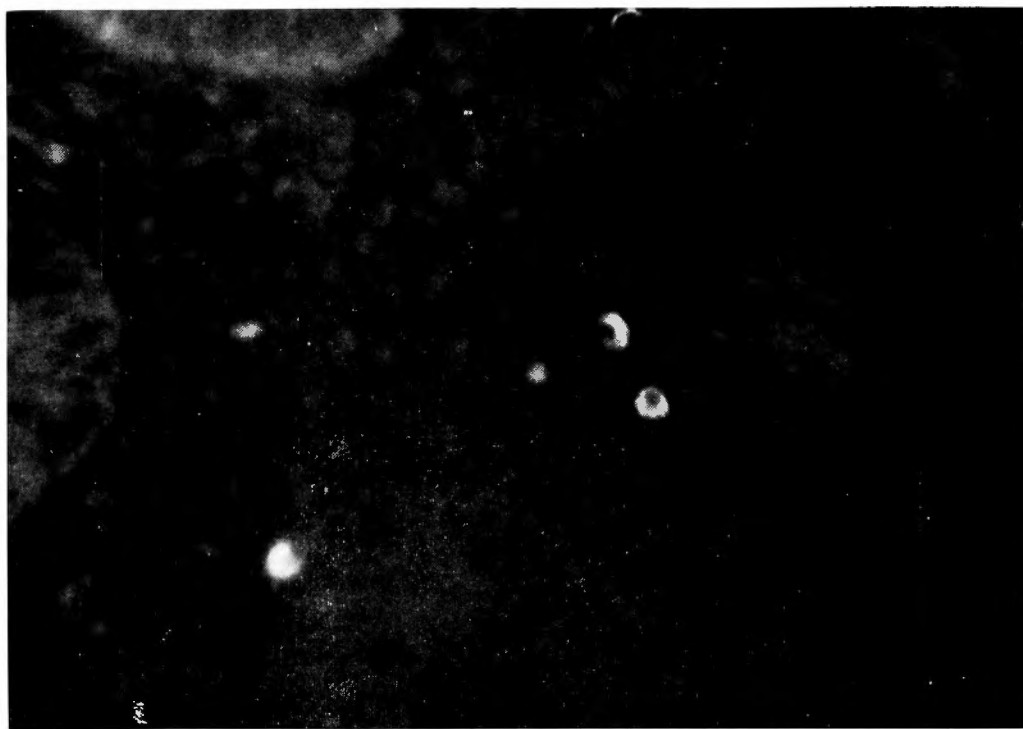


図 6 症例 3 の虫垂. 粘膜固有層に抗アデノウィルス抗体保有細胞が認められる.
(蛍光抗原法, $\times 200$)

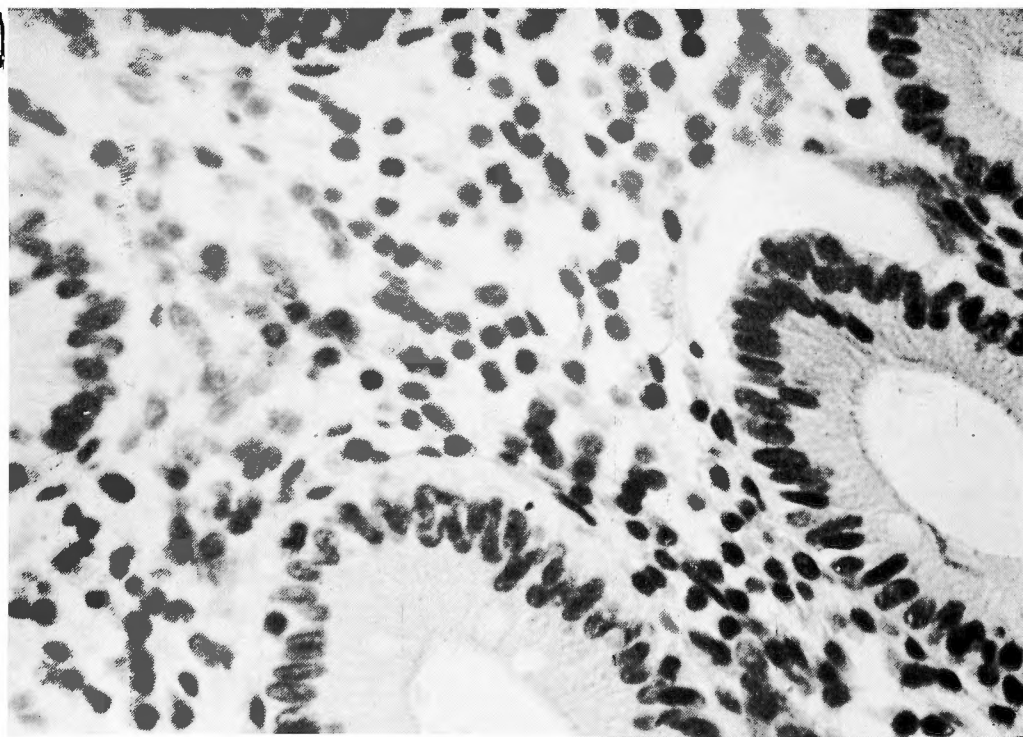


図 7 図 6 の標本をヘマトキシリン・エオジン染色で後染色したもの.

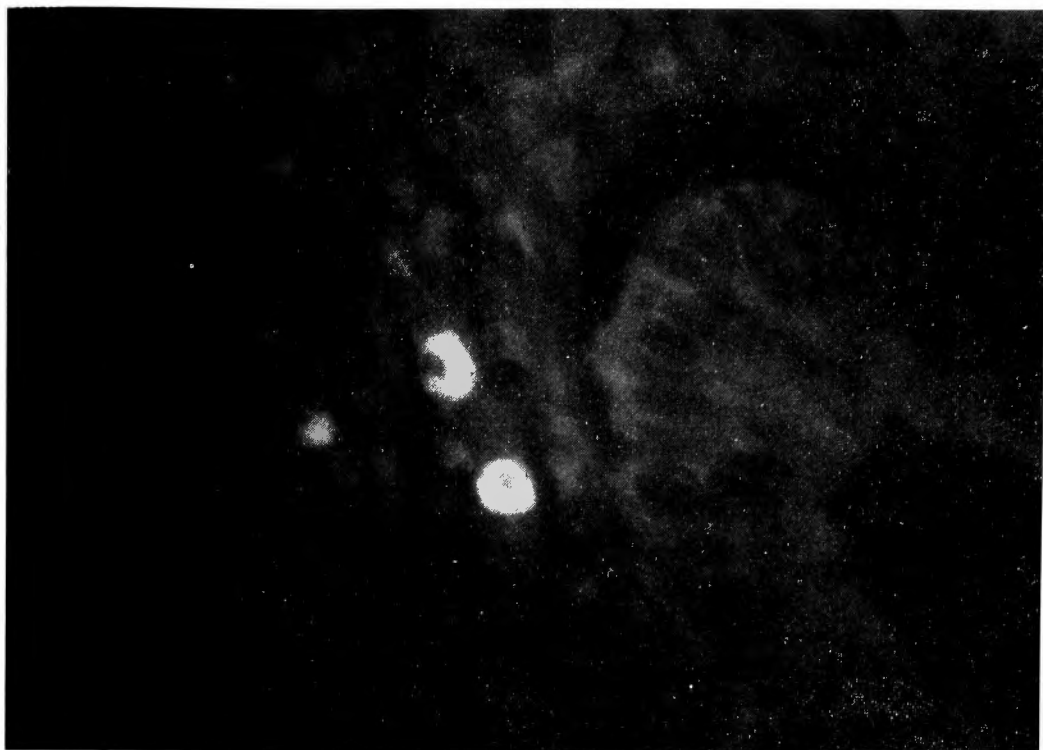


図 8 図 6 の強拡大. (螢光抗原法, $\times 400$)

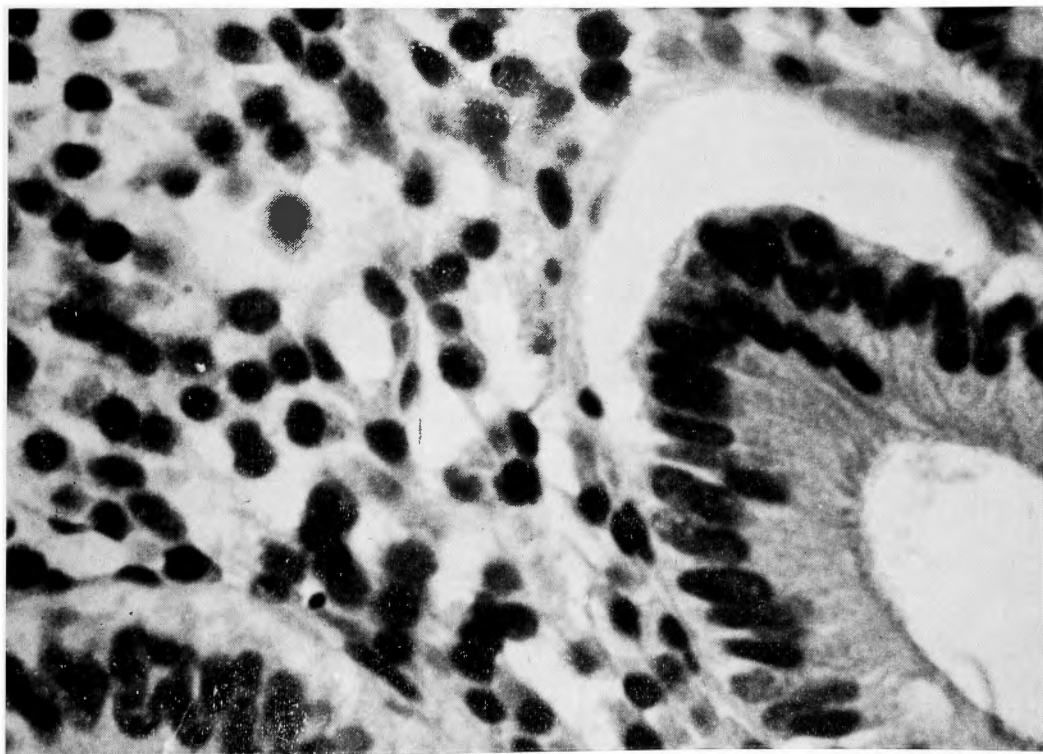


図 9 図 8 のヘマトキシリン・エオジン染色で後染色したもの.

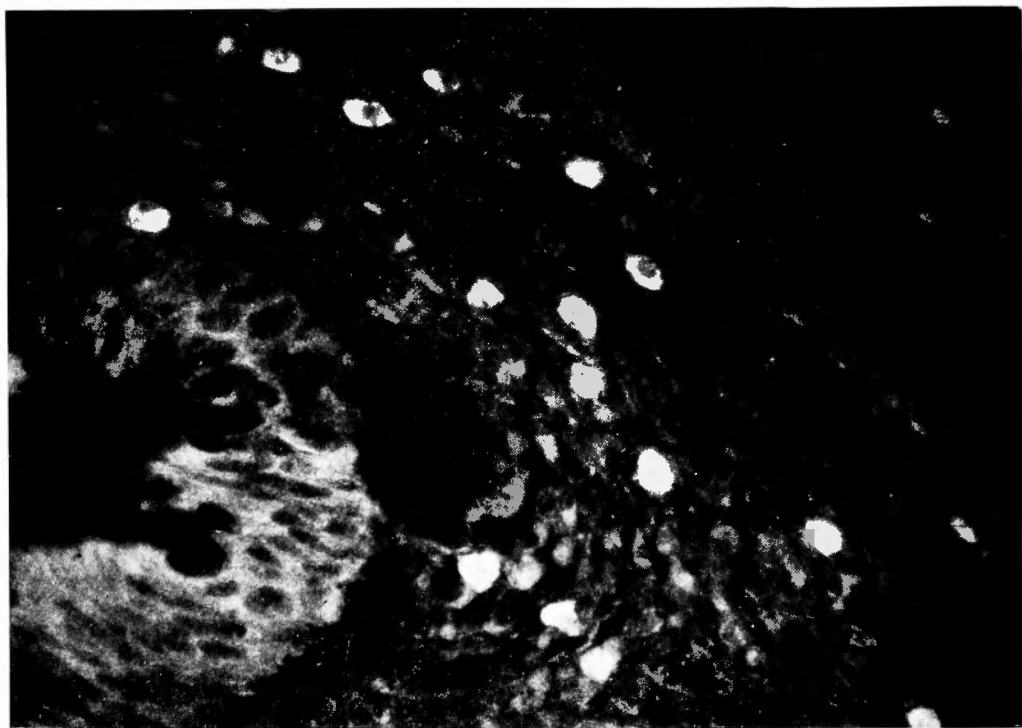


図10 症例12の虫垂. 螢光抗原法により粘膜固有層に抗アデノウィルス抗体保有細胞を認める. $\times 160$

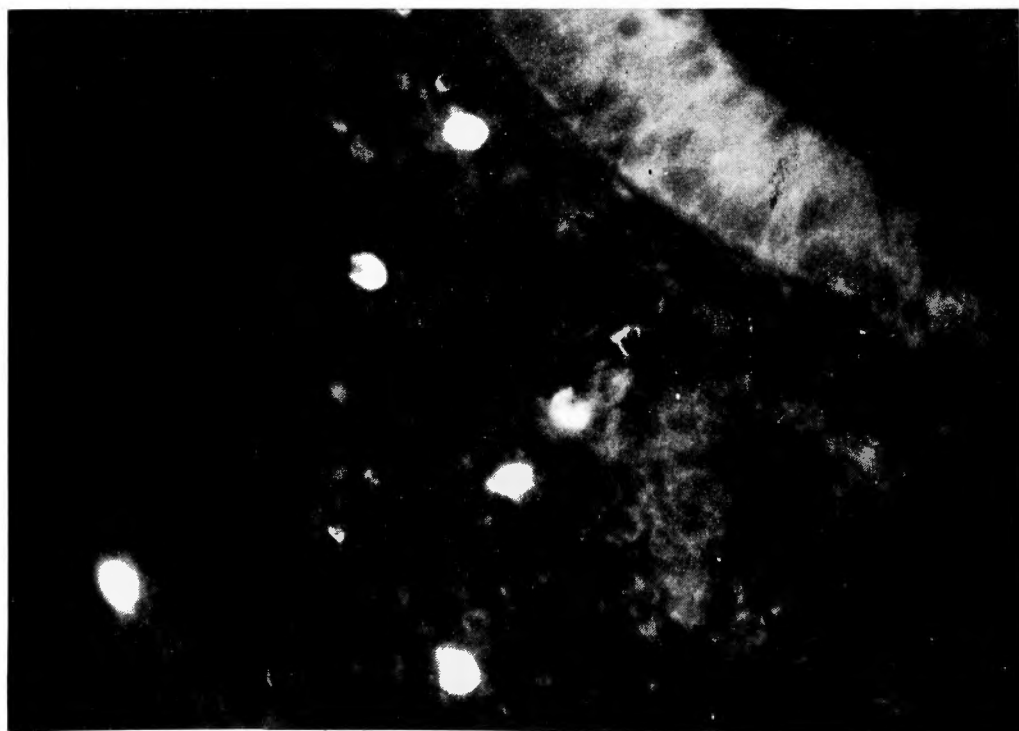


図11 虫垂の粘膜固有層に認められる抗アデノウィルス抗体保有細胞. 症例47. (螢光抗原法, $\times 160$)



図12 虫垂の粘膜固有層に認められる抗アデノウイルス抗体保有細胞. 症例73.
(蛍光抗原法, $\times 1000$)

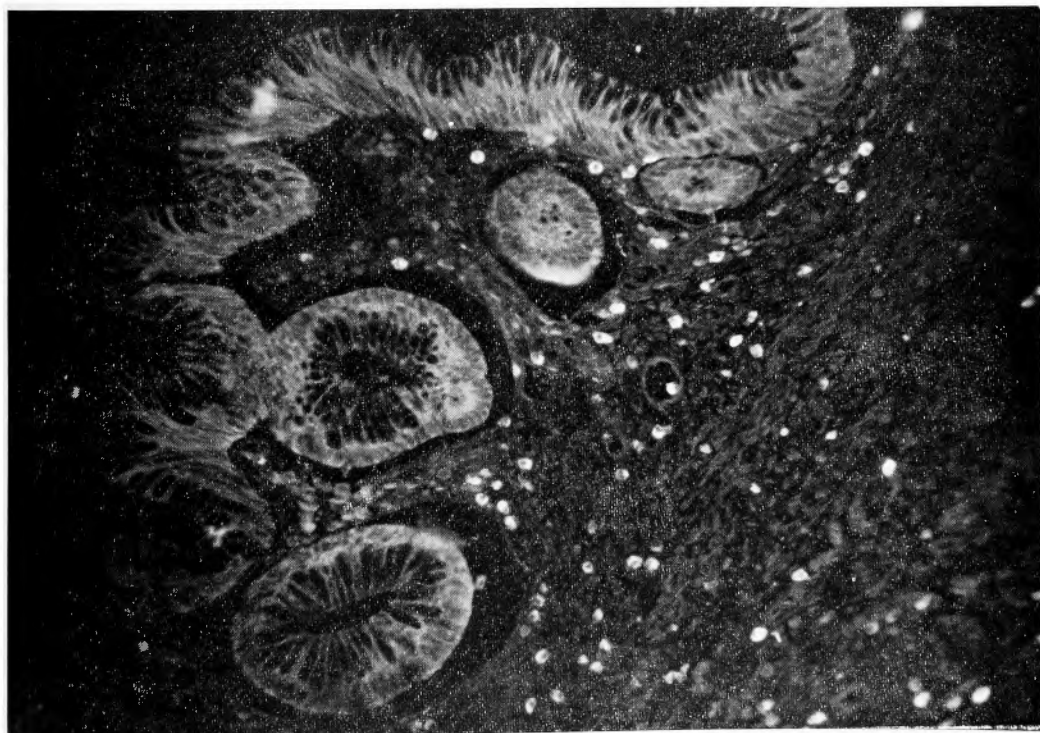


図13 6才男児腸重積症例の虫垂. 粘膜固有層に抗アデノウイルス抗体保有細胞を認む. (蛍光抗原法, $\times 160$)

粒状を呈していた。

II. 小児腸重積症の成績

小児腸重積症の10症例について夫々ウイルス分離、血清抗体価の測定、蛍光抗体法および蛍光抗原法等による検索を行なったが、表6に示すようにウイルス感染、特にアデノウイルスの最近における感染を考えしめる症例が10例中6例を占めた。

ただ、糞便からウイルス分離し得たものは、1例に過ぎず諸家の報告に比すると遙かに低率であるが、著者の症例では細胞変性効果の発生を観察するには余りにもその期間が短か過ぎた嫌いがあり、必ずしも残りの全例が陰性であったとは断定出来ない。

腸間膜リンパ節の腫脹は、手術症例の全例にみられたが、病理組織学的には Reticulosis を主徴とするもので腫脹による二次的变化ではないように思われる。虫垂粘膜あるいは腸間膜リンパ節内にウイルス抗原を見出し得たもの、および蛍光抗原法によってアデノウイルス抗体を確認し得たものは夫々4例であった。

第4章 考 按

1953年、Rowe³⁴⁾ は小児から摘出された adenoid tissue を組織培養しているうちに、それが自然に細胞変性に陥ることに気付く、HeLa 細胞に継代した際変性を惹起せしめる原因がウイルスにあることを証明し、adenoid degeneration agents と名付けたが、一方、1954年 Hilleman & Werner³⁵⁾ はアメリカで新兵に流行する急性気道炎（一名新兵カビ）より、また Rowe³⁶⁾³⁷⁾ は子供の結膜炎を伴う咽頭炎（pharyngo-conjunctival fever）より同種のウイルスを分離し、これらウイルス群をアデノウイルスと命名したことは周知のごとくである。

このように当初は主として上気道感染源としてアデノウイルスの関与が注目されたが、1955年、Kjellén¹⁾ が腫脹した腸間膜リンパ節からもアデノウイルスを分離し得たことが端緒となり、消化器疾患におけるアデノウイルス感染も大いに注目されるようになった。

Ross²⁾³⁾ (1961) は、小児腸重積症の患児の多くに、上気道感染が先行あるいは合併することから、それとアデノウイルス感染との関連性について注目し、その24症例について検索した結果、その発症には季節的な頻度の差のあること、また24症中13例に上気道感染を認め得ること、更には24例中14例にアデノウイルス補体結合抗体価の有意な上昇がみられることを指摘すると共に、咽頭ぬぐい液からは23例中11例に、糞便から

は23例中15例に、腫脹した腸間膜リンパ節からは21例中9例に、アデノウイルスを分離し得たとし、これに対して対照群の正常児糞便からは41例中1例にウイルスを分離し得たに過ぎず、また腸間膜リンパ節からは検索し得た15例の何れにおいても全くウイルスを分離し得なかったとし、そのような点からアデノウイルス感染にもとずいて腸間膜リンパ節が腫脹すると、そこに腸管の痙攣が惹起され、遂には腸重積の発症にまで発展し得る可能性のあることを提唱した。なお、その際分離され得たアデノウイルスの型は、15例中、2型5例、1型4例、5型3例、3型6型7型各1例であったという。

更に、Gardner⁴⁾⁵⁾ ら (1962) も、38例の腸重積症例を集積し、対照正常児糞便からアデノウイルス分離が、37%であったのに対して、腸重積患児の糞便からのアデノウイルスの分離は46%（1型8例、2型6例、5型3例、6型1例）で、前者に比べ高率であることを指摘すると共に、血清学的にもそのような患児では高率に最近アデノウイルスに感染したことを示唆する成績が得られたとしている。

Bell⁶⁾ ら (1962) は、17例の腸重積症例中、11例において腸間膜リンパ節からのアデノウイルスの分離に成功したのに対して、対照群では50例中5例において分離され得たに過ぎず、明らかに両者の間には有意の差が認められ、また腸間膜リンパ節炎でも31例中11例においてウイルスが分離され得たとしている。一般に小児腸重積症は2才以下のものに多くみられ、非特異性腸間膜リンパ節炎にしても、1～11才程度のものに多くみられる。而かも、そのような症例の5例においてアデノウイルス1型を、2例において2型を、各1例において3型、5型、6型、Echo ウイルス7型、9型を夫々分離し得たとし、対照群においては僅かに4例のものにおいて、アデノウイルス1型を、1例においてコクサッキー B₅ 型を夫々に分離し得たに過ぎないところから、アデノウイルスとそれら疾患との関連性を強く主張している。

Potter³⁸⁾ ら (1963) も、48例の腸重積症の患児の血清について検索し、アデノウイルス1、2、3、5、6、7、型の何れかの中和抗体価が上昇していることをみている。

一方、わが国では、石井³⁹⁾ ら (1964) が、乳児腸重積症3例の糞便より、アデノウイルスを分離し、2例において血清抗体価の上昇を認め得たとし、町田(1965) は、腸重積症の2例からアデノウイルスを分離し、他

の1例では血清抗体価の有意の上昇が認められたとしている。また喜多村⁴⁰⁾ら(1969)も、生後10ヶ月の腸重積症患児の腸間膜リンパ節よりアデノウイルス1型を分離している。

このように、糞便よりのウイルス分離や血清中和抗体価の推移より、今日ではアデノウイルスが小児の腸重積症の発症と、何等かの因果関係を有することが大いに推測されるようになった。

他方、小児腸重積症の手術に際し、屢々腸間膜リンパ節や、回腸末端部のパイエル板の増殖、腫脹⁴¹⁾が見られることは古くから指摘されて来たところであり、これらリンパ組織の変化が小児腸重積症の成因と大いに関連性を有することを指摘した報告も多い。こうした諸家の報告を併せ考えると、アデノウイルスの感染により、腸管壁あるいは腸間膜リンパ節の増殖、腫脹が惹起され、それが腸重積症へと進展する原因となり得るものとも考えることも、あながち無理があるように思われない。しかしながら今日までのところそれを実験的に再現し、証明した報告はみられない。

次に、虫垂炎の成因についてであるが、古くから数多くの仮説が発表されて来た。その中でも特に注目されるものは、虫垂粘膜内のリンパ組織の増殖との関連である。即ち、Hwang と Krumbhaar⁴²⁾ は、虫垂のリンパ組織は生後次第に発達し、10才代に至って最高潮に達し、その後は次第に縮小、萎縮してゆくものとしている。而も虫垂炎の最も多発する時期と、虫垂壁のリンパ組織の最も発達する時期とがよく一致するとした。

また、Bohrod⁴³⁾ と Nathans⁴⁴⁾ は、虫垂の解剖学的構造の年令変化に注目し、虫垂炎の多発する20才前後になると、虫垂の筋層が発達、肥厚、あまつさえ虫垂壁のリンパ組織の増生により容易に内腔の狭窄が生じ得るに至ることを指摘し、Anderson⁴⁵⁾ も、若年者にみられる最も一般的な虫垂炎の発症には虫垂のリンパ組織の増生が重要な役割を果たしており、虫垂内腔の狭窄、閉塞にもとずく循環障害、虫垂壁の損傷が当該局所の抵抗力を減弱せしめ、ひいては細菌の二次的感染を容易に助長するものとした。しかし、此处で問題となるのは虫垂粘膜のリンパ組織の増生を促がす原因が一体何であるかということである。当然のことながら、それにはウイルス、細菌等の抗原刺激というものが与っているのではないかということがまず考えられる。ところで、Finkeldy⁴⁶⁾ は1932年、麻疹に際し Warthin-Finkeldy 細胞と呼ばれる巨細胞が虫垂壁に

現われることを指摘したが、更に1965年に至り、戸部は虫垂炎の成因としてのウイルス感染説を唱えるに至った。

即ち、戸部はまず虫垂切除術前後の血清のウイルス補体結合抗体価を測定し、高率にアデノウイルスあるいはコクサッキーB型ウイルスに対する補体結合抗体価の上昇していることを立証し、次いで蛍光抗体法を用いて、軽症虫垂炎患者の多くのものにおいて、アデノウイルス抗原(34例中7例)あるいはコクサッキーB型ウイルス抗原(60例中24例)が立証され得ることを確認し、カゼがいろいろのウイルスによって惹起されるように、虫垂粘膜下のリンパ組織あるいは腸間膜リンパ節も、いろいろのウイルスの顕性ないしは不顕性感染によって腫脹し、これが虫垂炎のTriggerとして大腸菌あるいは化膿菌の二次的感染を促がし、その中のあるものでは化膿性虫垂炎にまで発展するが、またあるものではリンパ組織の増生をみる程度にとどまり、而も疼痛を訴え、外科医を訪れる場合もあり得てよいとし、従来カタル性虫垂炎として取扱われて来た虫垂炎は、このようなものが多いのではないかとしたのである。また、更にコクサッキー-B₅型ウイルスによるサル感染実験を行ない、回腸末端部および盲腸がウイルス増殖の主要な場となり得ることをも指摘している。

次いで、Bonard⁴⁷⁾ (1966) は虫垂標本99例、腸間膜リンパ節標本132例について、夫々からのウイルス分離を試み、15例(20組織培養例)からアデノウイルスを分離し得たとし、而もその大多数が軽症虫垂炎からで、化膿性虫垂炎から分離し得たのは2例に過ぎず、戸部の提唱を肯定し、急性化膿性虫垂炎の前景には、ウイルスによる感染があり、これが細菌の二次的感染を促がすものであろうとしたのである。

しかし、虫垂炎の発症期には既にウイルス抗原に対する抗体産生が行なわれており、ウイルス抗原そのものは最早消失してしまっている可能性というものも否定し得ないから、出来得れば更にそのような抗ウイルス抗体の存在を立証することが望ましい。特に、リンパ組織の増生をウイルス感染に対する免疫反応の一環ととして捉らえる立場からすれば、そこにどうしても抗ウイルス抗体またはその保有細胞について検索をしておかなければならないであろう。

さきに、教室の児玉¹⁶⁾は蛍光抗原法なる、いわば従来の蛍光抗体法とは逆に、組織切片上のアデノウイルスに対する特異抗体をよく蛍光顕微鏡下に観察し得る方

法を考案している。

特異抗体の組織内での局在性を知らうとする試みは、既にCoons³¹⁾ (1955), White³²⁾, Hiramoto⁴⁸⁾, Green⁴⁹⁾ らによりなされているが、それらは何れもまず抗原液を組織切片に反応させ、そこに特異抗体保有細胞に結合せしめ得た抗原を、更に同抗原に対する螢光標識抗体で染色するという Sandwich 法、要するに螢光抗体法を駆使、応用したもので、この方法による限り抗原保有細胞と抗体保有細胞の染め別けが出来ないという欠点のあることは否めない。

それに対し、螢光標識した抗原で直接組織切片を染色する児玉の螢光抗原直接法によると、よく抗体保有細胞のみ検索し得る利点がある。

今回試みた M-Ad による経口感染実験で、接種後3日目より14日目頃に至る間、回腸末端部および腸間膜リンパ節よりよくウイルスを分離し得ること、接種後3日目より回腸の Lieber Kühn 氏腺窩上皮細胞の核内に特異螢光が認められるようになり、7~14日目には、それが腺窩全域におよぶようになり、10日目頃からは腸間膜リンパ節の膜脈が著明に認められるようになること、また経口接種後7日目頃からは回腸の腸粘固有層、並びに膜間膜リンパ節髄索の部に存在する形質細胞と思われる細胞の細胞質内に特異螢光が明らかに認められ得るようになるなどを立証し得たのである。

このように、アデノウイルスの感染によっても、明らかにリンパ組織の増生が惹起されるに至ることは間違いないが、そうだからといって、その全てをアデノウイルスの感染のみに求めることは勿論出来ない。回盲部のリンパ節又はリンパ組織の肥大、腫脹は、他のウイルスおよび細菌の感染によってもおこり得るもので、現に戸部らがコクサッキー B_s 型ウイルスのサル感染実験で、回腸や腸間膜リンパ節での著明なウイルス増殖とリンパ組織の肥大を認めているところからも明らかであろう。唯、アデノウイルス群が極くありふれたウイルスであると同時に、リンパ組織に強い親和性を有するものであることから、恐らく他のものに比して、遙かに高率にその原因として与っている可能性は極めて大である。

また、臨床例の虫垂においてアデノウイルス特異抗体保有細胞が、48%の高率に証明され得たことは虫垂炎の前景としてアデノウイルスの感染が関与していることを大いに示唆せしめるものといえよう。

興味あることは、本感染実験に際し、接種後早期に

胸腺にアデノウイルス抗体保有細胞が出現するに至った事実である。従来、胸腺には blood thymus barrier なるものが存在して、抗原が直接胸腺に達することは出来ず、従ってそこでは免疫反応は惹起され得ないものとされて来たが、Marrshall⁵⁰⁾ らは胸腺内に diphteria toxoid を直接注射して抗原刺激をすると、胸腺の髄質や小葉間結合組織および皮髄移行部に多数の形質細胞が出現することを確認、適当量の抗原が反復作用する時は blood thymus barrier が開き、抗原が胸腺内に侵入、それを刺激しそこに形質細胞の出現をみるに至るものとしたが、その後胸腺にも形質細胞の出現をみるに至ることは多くの人々により確認⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾⁵⁴⁾されており、教室の磯辺⁵⁵⁾も亦さきに胸腺のアデノウイルス抗体保有細胞について検索し、それが形質細胞の中でも特に IgG 保有細胞であろうとしている。

マウスを用いた本感染モデル実験は、要するに容易にアデノウイルス抗原は胸腺にも達し、而も感染早期から、その抗体保有細胞が胸腺にみられるようになることを実験的に明らかならしめたという点において、大きな意義を有し、ウイルス感染と抗体産生機序の解明に大いに資するものと考える。

第5章 結 論

小児腸重積症、虫垂炎および非特異性腸間膜リンパ節炎などリンパ組織を犯かす性格のある腹部疾患の成因として、ウイルス感染特にアデノウイルス感染が大いに与っているのではないかと考え、マウスアデノウイルスの経口感染実験を行ない、この点を実験的に匡した。その結果実験的に接種されたマウスアデノウイルスは腸管を中心に増殖し、腸管リンパ組織および腸間膜リンパ節の増殖、肥大を惹起せしめ、その時期に一致して抗アデノウイルス抗体保有細胞が著明に増加することを螢光抗原法により確認し得た。

更に、小児腸重積症、軽症虫垂炎などといった臨床例を集計し、小児腸重積症では40%、軽症虫垂炎では48%の割合に抗アデノウイルス抗体保有細胞の存在することをも確認、そのようなリンパ組織を犯かす性格のある腹部疾患では、その成因としてアデノウイルスが重要な役割を果していることを明かならしめ得た。

なお、マウスを用いてのアデノウイルス経口接種実験モデルにおいて、確認し得た感染早期に認められる胸腺内アデノウイルス抗体保有細胞の出現は、抗体産生機序の解明に大いに資するものと考える。

本研究の要旨は、第9回国際消化器病学会(昭和47年7月、パリ)、第4回国際組織細胞化学学会(昭和47年8月、京都)および第23回日本アレルギー学会総会(昭和48年11月、東京)において発表した。

本研究は、京都大学外科学教室木村忠司名誉教授(現愛媛大学教授)日笠頼則教授並びに京都大学ウイルス研究所植竹久雄教授の御指導のもとに、戸部隆吉助教授、児玉宏助手、磯辺善成学士および京都大学ウイルス研究所浜田忠弥助教授(現新潟大学細菌学教室教授)と共に行なった協同研究の一部である。諸先生に心から謝意を表すると共に、有益な示唆と御教示をいただいた京都大学ウイルス研究所花岡正男教授に深謝する。なお本研究の一部は、財団法人阪本奨学金の援助を受けた。付記して謝意を表する。

文 献

- 1) Kjellén, L.: Studies on an unidentified group of cytopathic agents. Arch. ges. Virusforsch., **6**: 45, 1955.
- 2) Ross, J. G., and Potter, C. W.: A possible causal factor in intussusception in infancy. Lancet, **1**: 81, 1961.
- 3) Ross, J. G., Potter, C. W. and Zachary, R. B.: Adenovirus infection in association with intussusception in infancy. Lancet, **2**: 221, 1962.
- 4) Gardner, P. S.: Adenovirus and intussusception. Brit. med. J., **2**: 495-496, 1961.
- 5) Gardner, P. S., Knox, E. G., Court, S. D. M. and Green, C. A.: Virus infection and intussusception in childhood. Brit. med. J., **2**: 697-700, 1962.
- 6) Bell, T. M. and Steyn, J. H.: Viruses in lymph nodes of Children with mesentric adenitis and intussusception. Brit. med. J., **2**: 700-702, 1962.
- 7) Tobe, T.: Inapparent Virus infection as a trigger of appendicitis. Lancet., **1**: 1343-1346, 1965.
- 8) 戸部隆吉, 岩本 怜, 吉田睦広, 鳥居昭三: 所謂軽症虫垂炎について. 第90回近畿外科学会, 昭36, 京都. (日本外科学会誌., **67**: 219, 昭41.)
- 9) 戸部隆吉: 虫垂炎のウイルス学的検索. 第14回日本アレルギー学会総会., 昭39, 名古屋. (アレルギー., **14**: 71, 昭41.)
- 10) 戸部隆吉: 虫垂炎の Trigger としてのウイルス感染. 日本医事新報., **2166**: 27-31, 昭40.
- 11) 戸部隆吉, 堀越雄二郎: 虫垂炎の成因—虫垂炎の Trigger としてのウイルス感染. 外科治療., **14**: 415-421, 昭41.
- 12) 戸部隆吉, 堀越雄二郎, 浜田忠弥, 浜島義博: Enterovirus 殊に Coxsackie B₅型ウイルス感染猿に対する免疫組織学的研究. 第16回日本アレルギー学会総会., 東京, 昭41. (アレルギー., **15**: 1055-1056, 昭41.)
- 13) 戸部隆吉: ウイルス性虫垂炎について—Coxsackie B₅型ウイルス経口感染猿に対する免疫組織学的研究の示唆するもの. 外科診療., **9**: 791-796, 昭42.
- 14) Tobe, T., Horikoshi, Y., Hamada, C. and Hamashima, Y.: Virus infection as a trigger of appendicitis: Experimental Investigation of Coxsackie B₅ virus infection in Monkey Intestine. Surgery., **62**: 927-934, 1967.
- 15) 浜田忠弥, 戸部隆吉: マウスアデノウイルス感染における腸管抵抗性. ウイルス学の進展—1969—, 63-81, 昭44.
- 16) 児玉 宏, 正木直也, 戸部隆吉, 浜田忠弥: 螢光抗原法—抗アデノウイルス抗体保有細胞を鏡検する試み. 医学のあゆみ., **83**: 540-545, 昭47.
- 17) Ginsberg, H. S., Pereira, H. G., Balentine, R. C. and Wilcox, W. C.: A proposed terminology for the adenovirus antigen and viron Morphological subunits. Virology., **28**: 782-783, 1966.
- 18) Pereira, H. G., Allison, A. C. and Forthing, C. P.: Study of adenovirus antigen by immunoelectrophoresis. Nature., **183**: 895-896, 1959.
- 19) Allison, A. C., Pereira, H. G. and Forthing, C. P.: Investigation of adenovirus antigens by agar diffusion technique. Virology., **10**: 316, 1960.
- 20) Huebner, B. J., Pereira, H. G., Allison, A. C., Hollinshead, A. C. and Turner, H. C.: Production of type-specific C antigen in virus-free hamster tumor cells induced by adenovirus type 12. Proc. Nat. Acad. Sci., **51**: 432-439, 1964.
- 21) Eagle, H.: Propagation in a fluid medium of a human epidermoid carcinoma, strain KB. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **89**: 362-364, 1955.
- 22) Eagle, H.: Amino acid metabolism in mammalian cell culture. Science., **130**: 432-437, 1959.
- 23) Gessler, A. E., Bender, C. E. and Parkinson, M. C.: A new rapid method for isolating viruses by selective fluorocarbon deprotenization. Trans. N. Y. Acad. Sci., **18**: 701, 1956.
- 24) Kohn, J.: A simple method for the concentration of fluids containing protein. Nature., **183**: 1055, 1959.
- 25) Kobat, E. A. and Mayer, M. M.: Experimental Immunochemistry. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas. P. 22, 1911.
- 26) Klemperer, H. G. and Pereira, H. G.: Study of adenovirus antigens fractionated by chromatography on DEAE-cellulose. Virology., **9**: 536-537, 1959.
- 27) Haruna, I., Yaoi H., Kono, R. and Watanabe, I.: Separation of adenovirus by chromatography on DEAE-cellulose. Virology., **13**: 264-266, 1961.

- 28) 浜島義博, 京極方久, : 免疫組織学. 医学書院, 東京, 1968.
- 29) Ouchterlony, Ö.: Geldiffusion Techniques, Immunological Methods. (ed. Achroyd, J.F.) Blackwell Sci. Publ., Oxford, P.55., 1964.
- 30) Coons, A.H. and Kaplan, M.H.: Localization of antigen in tissue cells. II. Improvement in a Method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J. Exp. Med.*, **91**: 1-13, 1950.
- 31) Coons, A.H., Leduce, E.H. and Connelly, J.M.: Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med.*, **102**: 49-60, 1955.
- 32) White, R.G.: Antibody production by single cells. *Nature*, **182**: 1383-1384, 1958.
- 33) 国立予防衛生研究所学友会編: ウイルス実験学総論. 丸善, 東京, 1964.
- 34) Rowe, W. P., Huebner, R. J., Gilmore, L. K., Parrott, R.H. and Ward, J.G. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol and Med.*, **84**: 750-753, 1953.
- 35) Hilleman, M.R. and Werner, J.H.: Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **85**: 183-188, 1954.
- 36) Rowe, W. P., Huebner, R. J., Hartney, J. W., Ward, T. G. and Parrot, R. H.: Studies of the adenoidal-pharyngeal-conjunctival (APC) group of viruses. *Am. J. Hyg.*, **61**: 197-218, 1955.
- 37) Huebner, R. J., Rowe, W. P., Ward, T. G., Parrot, R. H. and Bell, J. A.: Adenoidal-pharyngeal-conjunctival agents—A newly recognized group of common viruses of the respiratory system. *New England J. Med.*, **251**: 1077-1086, 1954.
- 38) Potter, C.W.: Adenovirus infection as an aetiological factor in intussusception of infants and young children. *J. Path. Bact.*, **88**: 263, 1964.
- 39) 石井慶蔵, 齊藤 誠, 寺田 真, 沢田 徹: 幼児の腸重積症—その病原的観察を中心として—診断と治療, **55**: 323-326, 1967.
- 40) 喜田村 勇, 佐藤彰男, 稲葉 真, 平井俊太郎, 倉繁隆信, 木本 浩, 依田忠雄, 万代素子, 藤井紗代子, 佐藤泰雄: アデノウイルス I 型による乳児腸重積症. 医学のあゆみ, **68**: 280-282, 昭44.
- 41) Wangenstein, O. H.: Intestinal obstructions. 3rd ed. Charles C Thomas, 1955.
- 42) Hwang, J.M.S., and Krumbhaar, E.B.: Amount of lymphoid tissue of human appendix and its weight at different age periods. *Am. J. M. Sc.*, **199**: 75, 1940.
- 43) Bohrod, M.G.: Pathogenesis of acute appendicitis. *Am. J. Clin. Path.*, **16** 752, 1946.
- 44) Nathans, A.A., et al.: Lymphoid Hyperplasia of the Appendix. Clinical Study., *Pediatrics*, **12**(5), 516-524, 1953.
- 45) Anderson, W. A. D.: Appendicitis. Textbook of Pathology. C. V. Mosby CO., St. Louis, 803-806, 1961.
- 46) Finkeldy, W.: Riesenzellenbefunde bei akuter Wurmfortsatzentzündung. Ein Beitrag zur Histopathologie der Veränderungen des Wurmfortsatzes im Maserninkubationsstadium. *Virchows Arch.*, **234**: 518-525, 1932.
- 47) Bonard, E.C. and Paccaud, M. F.: Abdominal adenovirus and appendicitis. *Helvetica Med. Acta*, **33**: 164, 1966.
- 48) Hiramoto, R. N. and Hamlin, M.: Detection of two antibodies in single plasma cells by the paired fluorescence technique. *J. Immunol.*, **95**: 214, 1965.
- 49) Green, I., Vassalli, P., Nussenzweig, V et al.: Specificity of the antibodies produced by single cells following immunization with antigens bearing two types of antigenic determinants. *J. Exp. Med.*, **125**: 511, 1967.
- 50) Marshall, A.H.E. and White, R.G.: The immunological reactivity of the thymus. *Brit. J. Exp. Path.*, **42**: 379-385, 1961.
- 51) Burnet, M.: Cellular Immunology Books 1 and 2. Melbourne University Press, Cambridge University Press, Melbourne and Cambridge. 351-354, 1971.
- 52) Van Furth, R., Schuit, H.R.E. and Hijmans, W.: The formation of immunoglobulins by human tissues in vitro. III. Spleen, lymphnodes, bone marrow and thymus. *Immunology*, **11**: 19-27, 1966.
- 53) 横路謙次郎, 伊藤隆明: 抗体産生と胸腺の役割. 代謝, **9**: 1112-1119, 1972.
- 54) Shih-Tse Chen, Takayoshi Tobe, Yoshinari Isobe and An-Fu Chin.: Cellular sites of immunoglobulins. VI. Localization of immunoglobulin in the human thymus. *Immunol.*, in press.
- 55) 磯辺善成: ヒト胸腺における抗アデノウイルス抗体保有細胞の分布について. —螢光抗原法を用いての検索—. 日・外・宝, **43**: 428-450, 1974.
- 56) 児玉 宏: 螢光抗原法—腸管における抗アデノウイルス抗体保有細胞の観察. 日・外・宝, **44**: 124-140, 1975.